

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-108663

(43) 公開日 平成10年(1998) 4月28日

(51) Int.Cl. <sup>9</sup>	識別記号	F I	
C 1 2 M	1/00	C 1 2 M	1/00 A
	1/02		C
	1/38		1/02 A
// C 1 2 N	15/09		1/38 A
		C 1 2 Q	1/68 A
審査請求 未請求 請求項の数 5 F D (全 5 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願平8-281274

(22) 出願日 平成8年(1996)10月3日

(71) 出願人 000208053

タイテック株式会社

埼玉県越谷市西方2693番地 1

(72) 発明者 鍋谷 芳之

埼玉県岩槻市大字徳力637の 4

(72) 発明者 荒木 政平

埼玉県加須市花崎 1-37-46

(72) 発明者 丸山 一郎

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サン

ディエゴ市 ダヴィンチストリート 465

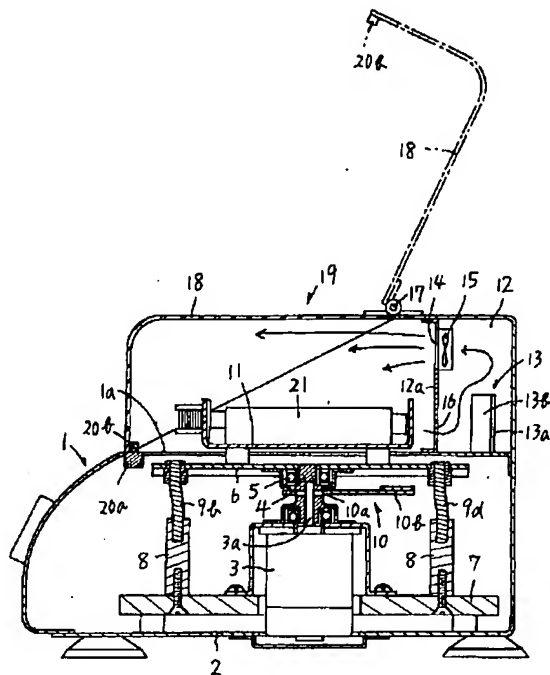
(74) 代理人 弁理士 永島 郁二

(54) 【発明の名称】 マイクロインキュベーターとそれを使用する反応および培養の促進方法

(57) 【要約】

【目的】 本発明はマイクロインキュベーターと、それを使用する各種反応／培養の促進方法を新規に提供することを目的とするものである。

【構成】 本発明は小型攪拌機本体の上面に振とう台を囲んで加熱部とファンと開閉蓋を有す恒温振とう用の加熱室を設けた新規のマイクロインキュベーターを提供するとともに、このマイクロインキュベーターを使用して、抗体／抗原検出、遺伝子増幅、制限酵素等の各種反応および植物組織、微生物、酵母等の各種培養試験などの反応および培養時間を37度前後の温度下にて管理しつつ攪拌することを特徴とする反応および培養の促進方法にある。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 小型攪拌機本体の上面に振とう台を囲んで加熱部とファンと開閉蓋を有す恒温振とう用の加熱室を設けたことを特徴とするマイクロインキュベーター。

【請求項2】 前記本体と開閉蓋間に開蓋を検知して振とう台の作動を停止する近接センサを設けた請求項1記載のマイクロインキュベーター。

【請求項3】 偏心回転軸の回転にて旋回回転する振とう台の四隅部を直径3乃至7mmの太さで硬度80乃至100程度の硬さを持って可撓性と防振性を備えたウレタン樹脂製の棒体にて水平旋回回転するように支持するとともに、前記偏心回転軸の前記振とう台下に同調回転するバランスウェイトを嵌着して、振とう台の旋回振動に伴う本体への振動影響を解消するようにした請求項1または2のいずれかに記載のマイクロインキュベーター。

【請求項4】 小型攪拌機本体の上面に振とう台を囲んで加熱部とファンと開閉蓋を有す恒温振とう用の加熱室を設けたマイクロインキュベーターにて、抗体／抗原検出、遺伝子増幅、制限酵素等の各種反応および植物組織、微生物、酵母等の各種培養試験などの反応および培養時間を37度前後の温度下にて管理しつつ攪拌するようにしたことを特徴とするマイクロインキュベーターを使用した反応および培養の促進方法。

【請求項5】 固相に不溶化した抗体あるいは抗原に測定を目的とする抗原あるいは抗体を結合させ、該固相上に結合した抗原または抗体を酵素標識抗体により検出し定量するなど酵素標識抗体を用いて行うELISA法において、酵素標識抗体の添加後に37度前後の温度下において攪拌しながら反応させるようにした請求項4記載の反応の促進方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】この発明は新規のマイクロインキュベーターと、そのマイクロインキュベーターを使用して行う反応および培養の促進方法に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】従来の小型攪拌機（マイクロミキサー）は本体の上面に表出するようにして振とう台を設け、該振とう台上に試料液を収容したマイクロチューブやマイクロプレートを載着して攪拌振とうしてきたものである。また酵素標識抗体を用いて目的の抗原あるいは抗体を検出し定量するいわゆるELISA法における反応試験やその他の反応試験および他の培養試験などは従来より室温下において静置状態にて行われている。

## 【0003】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、振とう台を本体の上面に表出している小型攪拌機（マイクロミキサー）は試料液を室温や大気より高い温度で振とうすることができないという課題がある。また室温下、静置状態における反応あるいは培養は長時間を要してな

お効率が悪いという課題がある。

## 【0004】

【課題を解決するための手段】本発明は小型攪拌機本体の上面に振とう台を囲んで加熱部とファンと開閉蓋を有す恒温振とう用の加熱室を設けたマイクロインキュベーターを提供し、このマイクロインキュベーターを使用して抗体／抗原検出、遺伝子増幅、制限酵素等の各種反応および植物組織、微生物、酵母等の各種培養試験などの反応および培養時間を37度前後の温度下にて管理しつつ攪拌するようにして、これらの課題を解決するようにしたである。

## 【0005】

## 【発明の実施の形態】

## (1)マイクロインキュベーター

反応／培養の促進方法の実施に有効なマイクロインキュベーターの発明について、図面に基づいて説明する。

【0006】小型攪拌機本体1の底板2の中心上にモータ3を据付け、該モータ3の上面に突出する回転軸3aに偏心回転軸4を上向きに嵌合取付けし、該偏心回転軸4の側周にベアリング5を挟んで偏心回転のみを受けて旋回回転する振動板6を嵌挿する。本体1の底板2上に中底板7を敷着固定し、該中底板7の四隅部上にほぼモータ3と同高にてなる支柱8を直立させ、各支柱8と振動板6の四隅部間に直径3mm乃至7mmの太さを有して硬度80乃至100程度の硬さを持つ可撓性と防振性を兼ね備えたウレタン樹脂製の棒体9a、9b、9c、9dを張設して振動板6を水平旋回するように支持する。なお、棒体は必要とされる支持力と可撓性との兼ね合いにより直径および硬度を決定することが望ましい。

【0007】さらに偏心回転軸4の振動板6の嵌挿部下にバランスウェイト10を同調回転するように取付ける。バランスウェイト10は嵌付孔10aより平面視扇形に拡がるウェイト部10bを有して形成して、偏心側にウェイト部10bが位置するように嵌付ける。つまり振動板6の偏心旋回によって軽くなる側に扇形10bを位置せしめて重量バランスを調和するように回転して振動板6の旋回回転に伴う振動、ガタつきを解消するようにしている。なお図面では振動板6の上に本体1の上面1aに表出する振とう台11を固定取付けているが、振動板6をそのまま本体1上に表出させるようにして振とう台とすることもできる。

【0008】小型攪拌機本体1の上面1aの後部に画室12を設け、該画室12内に加熱器13を取付けるとともに画室12の前面壁12aの上部に設けた穿孔部14にファン15を取付ける。加熱器13は温度検知によりON/OFF制御される加熱用ヒータ13aと加熱用ヒータ13aの発熱を帯熱するアルミブロック13bの貼合わせにてなる。16は前面壁12aの下部に設けた空気の流れ孔である。

【0009】画室12の前端上部に設ける蝶番部17をもとに本体1の上面1aの前半部、すなわち振とう台11の周囲

を覆う上下回動開閉形の透明な開閉蓋18を取付け、以って加熱器により加熱された空気の循環する加熱室19を形成するのである。

【0010】なお、本体1の前端と開閉蓋18の開蓋による接面部には開蓋を検知して振とう台11の作動を停止する近接センサ20a、20bを設け、電源やタイマースイッチ等を解除しなくても開蓋した際には振とう台11の振とう作動が一時停止するようにしている。

【0011】反応／培養の試料液を分注したマイクロチューブやマイクロプレート21を振とう台11上に載置固定して開閉蓋18を閉じ、電源を入れて温度設定をし、タイマ時間をセットすると、モータ3の起動により振とう台11が旋回回転して試料液を攪拌するとともに、加熱器13により加熱された空気がファン15により加熱室19内を対流して、試料液を37度の温度下に維持するのである。途中、試料液の状態を確認したいときは、開閉蓋18を開けると近接センサ20a、20bの作動により旋回回転作動が自動停止するので、一タスイッチ操作をすることなく安全に作業を行うことができる。開閉蓋18を閉じれば再び攪拌が再開されることとなる。

【0012】(2)ELISA法における反応の促進方法  
前記の本発明マイクロインキュベーターを使用したELISA法における反応促進方法をanti-TGF betaの測定試験における従来法との比較およびその結果として説明する。

【0013】プロトコール

① anti-TGF betaを2倍づつ希釈して、2枚のマイクロ\*

\* プレートにそれぞれ入れて、4℃でovernight吸着させて、PBS-Tで3回洗浄する。

【0014】② TGF-betaを1ng/mlに希釈して、前記マイクロプレートに添加して、本発明は前記マイクロインキュベーターを用いて37℃、700r/min. (湿度33%RT)の条件下、従来法は室温(25℃、湿度35%RT)の条件下においてそれぞれ2時間反応を行って後、PBS-Tで3回洗浄する。

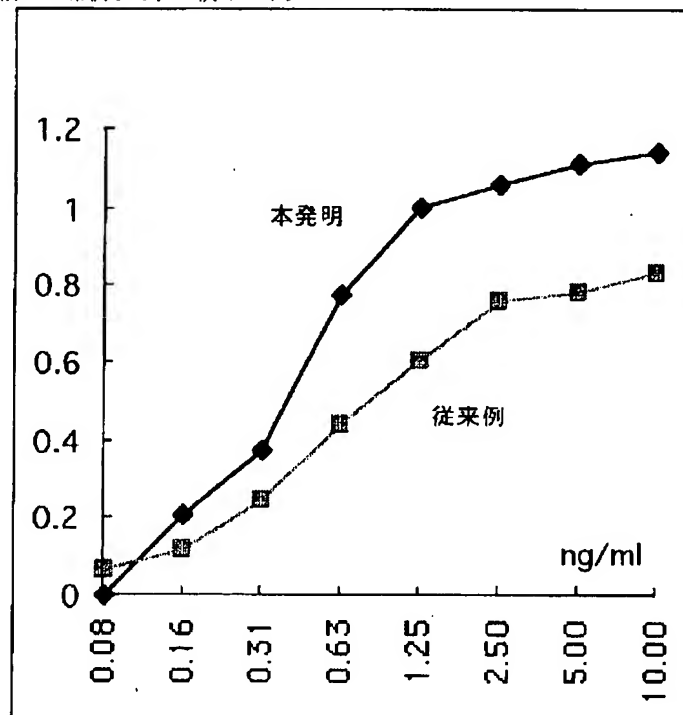
【0015】③ アルカリ性フォスファターゼで標識した二次抗体を1:5000倍に希釈してマイクロプレートに添加して、本発明はマイクロインキュベーターを使用して37℃、700r/min. (湿度33%RT)の条件下、従来法は室温(25℃、湿度35%RT)の条件下において2時間反応を行って、PBS-Tで3回洗浄する。

【0016】④ それぞれに基質溶液を添加して、10分間反応させ、マイクロプレートリーダーで計測した。

【0017】以上における計測の結果は次の表1に示すように、本発明のマイクロインキュベーターを使用して酵素標識抗体の添加後に37度前後の温度下において攪拌しながら反応させるようにした反応促進方法は、従来法の室温下、静置状態で行われていたELISA法の反応に較べて約1.5倍の効率を得られる結果となった。なお表1は2回の試験における平均値を採用したものである。

【0018】

【表1】



【0019】なお、その他の反応試験および培養試験に※50※においても、従来の室温下、静置状態にあった反応／培養

時間を本発明マイクロインキュベーターを用いて37度の温度下にて攪拌することにより反応／培養効率を著しく向上することができた。

【0020】

【発明の効果】本発明は以上のようにして、小型攪拌機本体の上面に振とう台を囲んで加熱部とファンと開閉蓋を有す恒温振とう用の加熱室を設けたので、別途恒温庫等を用意することなくして室温よりも高い正確な温度管理下における攪拌を簡易に実施することができるという効果を生ずる。

【0021】本体と開閉蓋間に開蓋を検知して振とう台の作動を停止する近接センサを設けたので、電源やタイマースイッチ等を一々解除しなくても開蓋した際には振とう台の振とうが一時停止して、振とう台上にセットしたマイクロチューブやマイクロプレート内の試料の状態の確認や、またはこれらの取り出し作業を容易且つ安全裡に行うことができるという効果を生ずる。

【0022】振とう台の四隅部を直径3乃至7mmの太さで硬度80乃至100程度の硬さを持って可撓性と防振性を兼備したウレタン樹脂製の棒体にて支持するとともに振とう台下の偏心回転軸にバランスウェイトを嵌着したので、旋回回転が長期に亘り反復しても棒体の疲労や腐食による折損を生じたりして振とう台の支持を不能とすることが解消するとともに、棒体の防振性およびバランスウェイトの同調回転によって、振とう台の旋回回転に伴う本体への振動の影響を解消して騒音やガタつき等の発生を防止することができるという効果を生ずる。

【0023】本発明のマイクロインキュベーターを用いてELISA法等の各種反応試験やその他の培養試験などの反応／培養時間を37度前後の温度下において管理しつつ攪拌して反応／培養させるようにしたことにより、同時間における反応／培養効率を著しく向上し、または反応／培養時間を短縮することができて、各種の反応／培養試験を合理的且つ効率よく実施することができるという効果を生ずる。

【図面の簡単な説明】

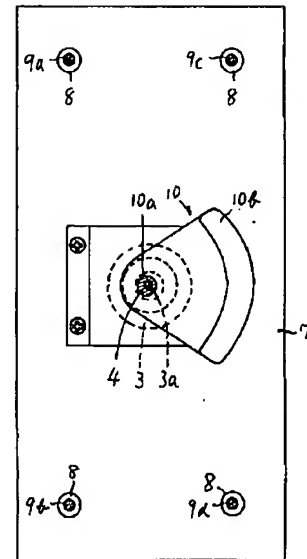
【図1】 本発明のマイクロインキュベーターの一実施形態を示す縦断側面図である。

【図2】 同、中底板上の棒体およびバランスウェイトの構成を示す平面図である。

【符号の説明】

- 1は本体
- 1aは上面
- 2は底板
- 3はモータ
- 3aは回転軸
- 4は偏心回転軸
- 5はベアリング
- 6は振動板
- 7は中底板
- 8は支柱
- 9a, 9b, 9c, 9dはウレタン樹脂製の棒体
- 10はバランスウェイト
- 10aは嵌付孔
- 10bは扇形のウェイト部
- 11は振とう台
- 12は画室
- 12aは前面壁
- 13は加熱器
- 13aは加熱ヒータ
- 13bはアルミブロック
- 14は穿孔部
- 15はファン
- 16は流通孔
- 17は蝶番部
- 18は開閉蓋
- 19は加熱室
- 20a, 20bは近接センサ
- 20はマイクロプレート

【図2】



A